

No active trail

DELPHION**Select CR****Stop T****RESEARCH****PRODUCTS****INSIDE DELPHION****Log Out** **Work Files** **Saved Searches**

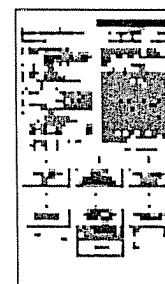
My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Derwent

The Delphion Integrated ViewBuy Now: ☒ PDF | [File History](#) | [Other choices](#)Tools: Add to Work File: [Create new Work File](#)View: [INPADOC](#) | Jump to: [Top](#) ☐ Go to: [Derwent](#)☒ [Email this](#)Title: **JP08277203A2: CHITINASE INHIBITOR**Derwent Title: Chitinase inhibitor contg cyclic di:peptide(s) including arginine residue - is useful as e.g. antifungal agent or agrochemical. [\[Derwent Record\]](#)Country: **JP** JapanKind: **A** (See also: [JP03634891B2](#))Inventor: **IZUMIDA HITOSHI;
NISHIJIMA MIYUKI;
SANO HIROSHI;
YAMAGISHI MASAOKI;
OISHI KAZUO;
OTA TOSHIYA;
MOTOSUGI MASAYOSHI;
KAMIMURA DAISUKE;
GOTOU MIKIHIRO;**Assignee: **KAIYO BIO TECHNOL KENKYUSHO:KK
SHIZUOKA PREFECTURE**
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)Published / Filed: **1996-10-22 / 1995-04-06**Application Number: **JP1995000081081**IPC Code: Advanced: [A01N 47/44](#); [A01N 63/02](#); [A61K 31/4965](#); [A61K 31/4985](#);
[A61P 31/10](#); [C07D 241/08](#); [C07K 5/12](#);
Core: [A01N 47/40](#); [A61P 31/00](#); [C07D 241/00](#); [C07K 5/00](#); more...
IPC-7: [A01N 47/44](#); [A01N 63/02](#); [C07D 241/08](#); [C07K 5/12](#);Priority Number: **1995-04-06 JP1995000081081**Abstract:

PURPOSE: To obtain a novel chitinase inhibitor which is useful as an antimycotic agent, agrochemical or the like by using a cyclic dipeptide containing an arginine residue having high inhibitory activity against chitinase as an active ingredient.

CONSTITUTION: A cyclic dipeptide which contains arginine residue and is represented as a diketopiperazine derivative by formula I or II (R1 is a side chain originating from the amino acid, for example, H in glycine, methyl in alanine or isopropyl in valine; R2, R3 are each H, OH) is used as an active ingredient to give this inhibitor. The dipeptide content is preferably 0.1-70wt.% based on the whole preparation. This cyclic dipeptide of formula I or II is readily produced, for example, by effecting the condensation reaction between protected arginine and another amino acid using N,N-dicyclohexyl-carbodiimide, followed by deprotection and cyclization. The objective chitinase inhibitor is useful as a new type of antimycotic agent, a growth regulator of insects and a therapeutic agent for candidiasis.





OrderPatent

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: 08277203 A
(43) Date of publication of application: 22.10.1996

(51) Int. Cl. A01N 47/44
A01N 63/02, C07D241/08, C07K 5/12

(21) Application number: 07081081
(22) Date of filing: 06.04.1995

(71) Applicant: KAIYO BIO TECHNOL
KENKYUSHO:KK
SHIZUOKA PREFECTURE
(72) Inventor: IZUMIDA HITOSHI
NISHIJIMA MIYUKI
SANO HIROSHI
YAMAGISHI MASAOKI
OISHI KAZUO
OTA TOSHIYA
MOTOSUGI MASAYOSHI
KAMIMURA DAISUKE
GOTOU MIKIHIRO

(54) CHITINASE INHIBITOR

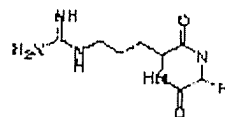
(57) Abstract:

PURPOSE: To obtain a novel chitinase inhibitor which is useful as an antimycotic agent, agrochemical or the like by using a cyclic dipeptide containing an arginine residue having high inhibitory activity against chitinase as an active ingredient.

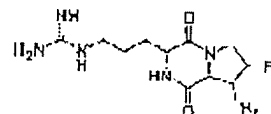
CONSTITUTION: A cyclic dipeptide which contains arginine residue and is represented as a diketopiperazine derivative by formula I or II (R_1 is a side chain originating from the amino acid, for example, H in glycine, methyl in alanine or isopropyl in valine; R_2 , R_3 are each H, OH) is used as an active ingredient to give this inhibitor. The dipeptide content is preferably 0.1-70wt.% based on the whole preparation. This cyclic dipeptide of formula I or II is readily produced, for example, by effecting the condensation reaction between protected arginine and another amino acid using N,N-dicyclohexyl-carbodiimide, followed by deprotec-

tion and cyclization. The objective chitinase inhibitor is useful as a new type of antimycotic agent, a growth regulator of insects and a therapeutic agent for candidiasis.

COPYRIGHT: (C)1996,JPO



I



II

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-277203

(43) 公開日 平成8年(1996)10月22日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 0 1 N 47/44			A 0 1 N 47/44	
63/02			63/02	F
C 0 7 D 241/08			C 0 7 D 241/08	
C 0 7 K 5/12		8517-4H	C 0 7 K 5/12	

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平7-81081

(22) 出願日 平成7年(1995)4月6日

(71) 出願人 591001949
株式会社海洋バイオテクノロジー研究所
東京都文京区本郷1丁目28番10号

(71) 出願人 590002389
静岡県
静岡県静岡市追手町9番6号

(72) 発明者 泉田 仁
静岡県清水市袖師町1900番地 株式会社海
洋バイオテクノロジー研究所清水研究所内

(72) 発明者 西島 美由紀
静岡県清水市袖師町1900番地 株式会社海
洋バイオテクノロジー研究所清水研究所内

(74) 代理人 弁理士 平木 祐輔 (外1名)
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 キチナーゼ阻害物質

(57) 【要約】

【構成】 アルギニン残基を含む環状ジペプチドを有効成分として含有することを特徴とするキチナーゼ阻害剤。

【効果】 新規なキチナーゼ阻害剤を提供する。このキチナーゼ阻害剤は抗真菌剤、農薬などとして利用できる。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アルギニン残基を含む環状ジペプチドを有効成分として含有することを特徴とするキチナーゼ阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、アルギニンを含む2つの α -アミノ酸からなる環状ジペプチドを有効成分として含有するキチナーゼ阻害剤に関するものである。このキチナーゼ阻害剤は、抗真菌剤、農薬などに利用することができる。

【0002】

【従来の技術】 キチンは、甲殻類、昆虫類、カビ、酵母等に幅広く分布している。甲殻類、昆虫類においては、クチクラの主成分がキチンであり、脱皮、成長の過程で、キチンの合成と分解が巧みに制御されていることが知られている。また、カビ、酵母等の真菌類は、分裂及び増殖の過程でキチンの合成と分解が制御されている。キチナーゼは、キチンをN-アセチルキトビオースにまで分解する酵素であり、この酵素が阻害剤によって阻害されれば、甲殻類、昆虫類の脱皮、成長また、カビ、酵母等の分裂、増殖に影響を与えることになる。すなわち、キチナーゼは、この代謝系に関わる重要な酵素であり、キチナーゼに対する阻害剤は、新しいタイプの抗真菌剤あるいは昆虫の成長制御剤になることが期待される。

【0003】 これまでに、キチナーゼ阻害剤としては、アロサミジン及びその誘導体（バイオサイエンスとインダストリー、作田庄平 51巻、18-23 1993年）知られていた。また、本発明者らは、新規キチナーゼ阻害物質としてシクロ-L-アルギニル-D-プロリンを報告している。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、抗真菌剤、農薬等に有用な新規なキチナーゼ阻害剤を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者等は、種々の化学物質のキチナーゼ阻害活性を測定した結果、アルギニン残基を含む環状ジペプチドが高いキチナーゼ阻害活性を有することを見出し、それらの有効な使用方法を明らかにすることによって、本発明を完成するに至った。

【0006】 即ち、本発明は、アルギニン残基を含む環状ジペプチドを有効成分として含有することを特徴とするキチナーゼ阻害剤である。以下、本発明を詳細に説明する。環状ジペプチドを構成する2つのアミノ酸の一方のアミノ酸は、アルギニンである必要があるが、アルギニンはL体でもD体でもかまわない。もう一方の α -アミノ酸は、公知の α -アミノ酸のいずれでもよく、L体、D体の別は問わない。このようなアミノ酸を具体的

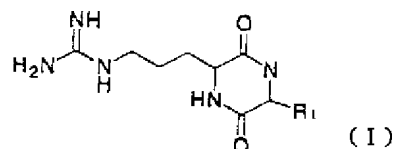
2

に例示すると、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、アスパラギン酸、グルタミン、グルタミン酸、ヒスチジン、アルギニン、プロリン、トリプトファン、チロシン、セリン、ヒドロキシプロリン、オルニチンなどがあげられる。これらの環状ジペプチドのうち、L-アルギニンとD-プロリンの縮合反応したもの、即ち、シクロ-L-アルギニル-D-プロリンは物質自体としても新規である。

【0007】 本発明の環状ジペプチドは、式(I)又は式(II)にあるようなジケトピペラジン誘導体として表すことができる。

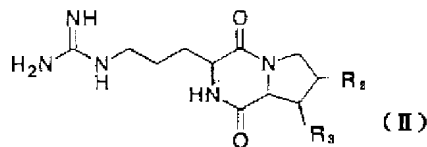
【0008】

【化1】



【0009】

【化2】



【0010】 ここで、R₁ はグリシンにおける水素、アラニンにおけるメチル基、バリンにおけるイソプロピル基などのアミノ酸由来の側鎖を示し、R₂ 及びR₃ は水素又は水酸基を示す。これら、2つのアミノ酸が、縮合反応によって、環状ジペプチドを形成した化合物にキチナーゼ阻害活性が認められる。キチナーゼに対する阻害剤は、新しいタイプの抗真菌剤あるいは昆虫の成長制御剤になることが期待される。

【0011】 本発明の環状ジペプチドは、合成法によって簡単に製造することができる。すなわち、保護基を有するアルギニンとそれぞれのアミノ酸をN, N-ジクロロヘキシルカルボジイミド法等によって縮合し、脱保護、環化反応を行うことで簡単に製造することができる (John C. Scheehan, Journal of American Chemical Society, Vol. 77, p1067-1069(1955))。なお、シクロ-L-アルギニル-D-プロリンについては、シュードモナスsp. IZ208株 (FERMP-14738) をはじめとしたシュードモナス属微生物を培養し、その培養物を採取することによっても製造できる。

【0012】 環状ジペプチドを医薬として製剤するには周知の方法を用いることができ、有効成分である環状ジペプチドに賦形剤を加えて製剤するのが好ましい。例えば、固体組成物を調製する場合タルク、ステアリン酸マグネシウム、硫酸カルシウム、スターチ、ラクトース、メチルセルロース等の賦形剤または担体と混合する。流

体組成物を調製するには、砂糖、芳香フレーバー剤及び保存剤とともに水性ビヒクルに溶解してシロップとする。また剤形及び投与形態としては、周知である個々の適用形態を用いて行うことができ、例えば、環状ジペプチドの適量を含有する錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、丸剤、点眼剤、座薬、エアロゾル、エマルジョン、液剤、懸濁剤等のごとき適用形態に処方できる。製剤全体における環状ジペプチドの含有量は、特に限定されず広範囲に選択できるが、通常0.1から70重量%にするのが望ましい。投与方法は、限定されるものではなく例え

ば、経口投与、非経口投与、局所投与、経直腸投与、吸入投与等の方法を用いることができる。臨床投与量は用法、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の程度等により便宜選択されるが通常環状ジペプチドの量は、一日あたり体重1kg当たり0.1~200mgの範囲であり、通常1日1~5回投与するのが好ましい。

【0013】キチナーゼの阻害活性は、シャーレ変法等の既知の方法（キチン、キトサン実験マニュアル、キチン、キトサン研究会編、p109-120）又は、キチナーゼ阻害物質の検定法（特願平6-237650号明細書）により測定

【0014】

【実施例】以下、実施例により本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

【実施例1】塩化メチレン溶液4ml中にN- α -t-ブトキシカルボニル-N- ω -メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォニル-L-アルギニン487mgを溶解後、D-プロリンベンジルエステル塩酸塩242mgとトリエチルアミン0.17mlを加え攪拌後、N, Nジクロロヘキシルカルボジイミド227mgを加え室温で2時間攪拌した。反応液は減圧濃縮し、残渣に酢酸エチル0.1mlを加え、固形物をろ過により除去後、減圧濃縮し、エー

テル-石油エーテル2mlから結晶化することで、N- α -t-ブトキシカルボニル-N- ω -メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォニル-L-アルギニル-D-プロリンベンジルエステルを572 mgを得た。

【0015】N- α -t-ブトキシカルボニル-N- ω -メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォニル-L-アルギニル-D-プロリンベンジルエステル404mgをトリフルオロ酢酸とアニソールの9対1混合溶液1mlに加え50℃で90分攪拌した。反応液を減圧濃縮後、生じた油状成分に水3mlを加え、トリエチルアミン

でpH6.0に調整後80℃で16時間攪拌した。反応液を減圧濃縮後、イソプロパノールと水の3対1溶液から結晶化することで、シクロ-L-アルギニル-D-プロリン115mg（収率76%）を得た。

【実施例2】塩化メチレン溶液4ml中にN- α -t-ブトキシカルボニル-N- ω -メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォニル-L-アルギニン487mgを溶解後、L-プロリンベンジルエステル塩酸塩242mgとトリエチルアミン0.17mlを加え攪拌後、N, Nジクロロヘキシルカルボジイミド227mgを加え室温で2時間攪拌した。反応液は減圧濃縮し、残渣に酢酸エチル0.1mlを加え、固形物をろ過により除去後、減圧濃縮し、エーテル-石油エーテル2mlから結晶化することで、N- α -t-ブトキシカルボニル-N- ω -メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォニル-L-アルギニル-D-プロリンベンジルエステルを563 mgを得た。

【0016】N- α -t-ブトキシカルボニル-N- ω -メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォニル-L-アルギニル-L-プロリンベンジルエステル404mgをトリフルオロ酢酸とアニソールの9対1混合溶液1mlに加え50℃で90分攪拌した。反応液を減圧濃縮後、生じた油状成分に水3mlを加え、トリエチルアミンでpH6.0に調整後80℃で16時間攪拌した。反応液を減圧濃縮後、イソプロパノールと水の3対1溶液から結晶化することで、シクロ-L-アルギニル-L-プロリン112mg（収率74%）を得た。

【実施例3】塩化メチレン溶液4ml中にN- α -t-ブトキシカルボニル-N- ω -メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォニル-L-アルギニン487mgを溶解後、グリシンメチルエステル塩酸塩125.5mgとトリエチルアミン0.17mlを加え攪拌後、N, Nジクロロヘキシルカルボジイミド227mgを加え室温で2時間攪拌した。反応液は減圧濃縮し、残渣に酢酸エチル0.1mlを加え、固形物をろ過により除去後、減圧濃縮し、エーテル-石油エーテル2mlから結晶化することで、N- α -t-ブトキシカルボニル-N- ω -メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォニル-L-アルギニル-グリシンメチルエステルを458mgを得た。N- α -t-ブトキシカルボニル-N- ω -メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォニル-L-アルギニル-グリシンメチルエステル334mgをトリフルオロ酢酸とアニソールの9対1混合溶液1mlに加え50℃で90分攪拌した。反応液を減圧濃縮後、生じた油状成分に水3mlを加え、トリエチルアミンでpH6.0に調整後80℃で16時間攪拌した。反応液を減圧濃縮後、イソプロパノールと水の3対1溶液から結晶化することで、シクロ-L-アルギニル-グリシン70.3mg（収率75%）を得た。

【実施例4】塩化メチレン溶液4ml中にN- α -t-ブトキシカルボニル-N- ω -メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォニル-L-アルギニン487mg

を溶解後、*L*-フェニルアラニンベンジルエステルシ
ル塩427mg とトリエチルアミン0.17mlを加え攪拌後、
N, Nジクロロヘキシルカルボジイミド227mg を加え室
温で2時間攪拌した。反応液は減圧濃縮し、残渣に酢酸
エチル0.1mlを加え、固形物をろ過により除去後、減圧
濃縮し、エーテル-石油エーテル2mlから結晶化するこ
とで、N- α -*t*-ブトキシカルボニル-N- ω -メト
キシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォニル-
L-アルギニル-*L*-フェニルアラニンベンジルエス
テルを608mgを得た。

【0017】N- α -*t*-ブトキシカルボニル-N- ω -
メトキシ-2, 3, 6-トリメチルベンゼンスルフォ
ニル-*L*-アルギニル-*L*-フェニルアラニンベンジル
エステル434mg をトリフルオロ酢酸とアニソールの9対
1混合溶液1mlに加え50℃で90分攪拌した。反応液を減
圧濃縮後、生じた油状成分に水3mlを加え、トリエチル
アミンでpH6.0に調整後80℃で16時間攪拌した。反応
液を減圧濃縮後、イソプロパノールと水の3対1溶液か
ら結晶化することで、シクロ-*L*-アルギニル-*L*-
フェニルアラニン142.5mg (収率70%)を得た。

〔実施例5〕ペプトン5g/L、酵母エキス1g/L、
グルコース5g/L、りん酸第二鉄0.01g/L、天然海
水1000mlの組成を有する培養培地(殺菌前pH7.5)150
mlを500ml フラスコに加え、これにシュードモナスsp. I
Z 208 株を種菌として植菌し、25℃、72時間振盪培養し*

*た。

【0018】得られた培養液10Lを10000rpmで遠心分離
し、培養上清を得た。上清を酢酸エチル(1000ml)で二
層分配し、酢酸エチル層と水層を得た。水層を活性炭
(和光純薬製)を充填したカラムに付し、水洗後、2N
酢酸を用いて溶出した。得られた溶出画分を減圧濃縮し
て10mlとし、HP-20 カラム(三菱化成社製)に付し、分
画を行った。活性画分を減圧濃縮して10mlとし、HW-40
(東ソー製)カラムに付し、分画を行った。活性画分を
2mlに減圧濃縮し、ODSカラム(ナカライテスク社
製)を用いたHPLCで、水(0.1%TFA含有)から
10%アセトニトリル水溶液(0.1%TFA含有)のグラ
ジエント溶出(30分間)によって展開した結果、28分に
活性画分が認められ分取した。分取画分を減圧濃縮して
シクロ-*L*-アルギニル-D-プロリン5mgを得た。

〔実施例6〕キチナーゼ阻害活性試験は、イカキチン寒
天ディスク法(特願平6-237650号明細書)に従って行っ
た。イカ由来のキチンを含んだ寒天培地に、キチナーゼ
産生菌*Serratia marcescens* ATCC990 の菌液を塗布し、
その寒天培地上に本発明の環状ジペプチドを含むペー
パーディスクをのせ、24℃48時間静置した。その後、ペー
パーディスクのまわりに残存するキチンハロの直径を測
定し、活性を測定した。結果を下表に示す。

【0019】

	5 μ g/disk	10 μ g/disk
シクロ- <i>L</i> -アルギニル-グリシン	0.9cm	1.4cm
シクロ- <i>L</i> -アルギニル-D-プロリン	1.2cm	1.8cm
シクロ- <i>L</i> -アルギニル- <i>L</i> -フェニルアラニン	1.4cm	2.0cm
シクロ- <i>L</i> -アルギニル-D-プロリン	1.2cm	1.8cm

〔実施例7〕カンジダ アルビカンスIFO 1060をYMBrot
h (Difco社製)を用いて培養を行い、シクロ-*L*-アル
ギニル-グリシンを加えた場合と加えない場合との形態
の観察を行った。その結果、シクロ-*L*-アルギニル-
グリシンを加えない場合は、培養24時間後に酵母型から
菌糸型への形態変化を起こしたが、シクロ-*L*-アルギ*

※ニル-グリシンを6 μ g/L以上の濃度にして培養する
と、カンジダ アルビカンスIFO 1060は、酵母型から、
菌糸型への形態変化を起こさなかった。

〔実施例8〕以下の処方により、シクロ-*L*-アルギニ
ル-グリシンを有効成分とする錠剤を調製した。

成 分	重量部
シクロ- <i>L</i> -アルギニル-グリシン	6
ラクトース	55
スターチ	30
タルク	3
硫酸カルシウム	4
ステアリン酸マグネシウム	2

【0020】

【発明の効果】本発明は、新規なキチナーゼ阻害剤を提

供する。キチナーゼ阻害剤は、抗真菌剤、農薬などに利
用できる。

フロントページの続き

(72)発明者 佐野 浩
静岡県清水市袖師町1900番地 株式会社海
洋バイオテクノロジー研究所清水研究所内
(72)発明者 山岸 政昭
静岡県焼津市小川256-2
(72)発明者 大石 一男
静岡県沼津市三園町7-1 職住303

(72)発明者 太田 俊也
静岡県駿東郡清水町柿田178-3 職住301
(72)発明者 本杉 正義
静岡県藤枝市2-5-12
(72)発明者 上村 大輔
静岡県静岡市池田1316-2
(72)発明者 後藤 幹裕
静岡県静岡市小鹿3-8-9-4 コーポ中
西201